UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER N° 48

FACULTÉ DE MÉDECINE

L'HOMOGÉNÉISATION

DES CRACHATS TUBERCULEUX

RECHERCHES

Sur Trois des Principales Méthodes

ET SUR

La Densité des Liquides d'Homogénéisation

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue à la Faculté de Médecine de Montpellier

Le 14 Mai 1912

PAR

André CORONE

Né à Montauban, le 7 février 1887

Interne des Hôpitaux (Concours 1910)

Bi-Lauréat de la Faculté

Pour Obtenir le Grade de Docteur en Médecine

Examinateurs de la Thèse { FORGUE, Professeur, *Président.* / RAUZIER, Professeur / VIRES, Professeur / GAUSSEL, Agrégé } *Assesseurs*

MONTPELLIER

IMPRIMERIE COOPÉRATIVE OUVRIÈRE

14, Avenue de Toulouse, 28, Rue Dom-Vaissette

1912

L'HOMOGÉNÉISATION

DES CRACHATS TUBERCULEUX

DU MÊME AUTEUR :

1° L'Homogénéisation des crachats tuberculeux (Bulletin de la Soc. des Sciences Méd. de Montpellier, 1911, p. 203).

2° Les Kystes congénitaux de la région latérale du cou : Revue générale (Gaz. des Hôp., 20 janv. 1912).

3° Bradycardie réflexe au cours d'une appendicite aiguë (Montpellier Médical, 5 mai 1912).

4° Recherches sur le signe de Lesieur : Matité rétro-hépatique dans la dothiénentérie (Communication à la Soc. des Sc. Méd. de Montpellier, 10 mai 1912).

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER N° 48

FACULTÉ DE MÉDECINE

L'HOMOGÉNÉISATION

DES CRACHATS TUBERCULEUX

RECHERCHES

Sur Trois des Principales Méthodes

ET SUR

La Densité des Liquides d'Homogénéisation

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue à la Faculté de Médecine de Montpellier

Le 14 Mai 1912

ACAD. LANG. RAT. BIBL.

PAR

André CORONE

Né à Montauban, le 7 février 1887

Interne des Hôpitaux (Concours 1910)

Bi-Lauréat de la Faculté

Pour Obtenir le Grade de Docteur en Médecine

Examinateurs de la Thèse : FORGUE, Professeur, *Président.* — RAUZIER, Professeur — VIRES, Professeur — GAUSSEL, Agrégé — *Assesseurs*

MONTPELLIER

IMPRIMERIE COOPÉRATIVE OUVRIÈRE

14, Avenue de Toulouse, 28, Rue Dom-Vaissette

1912

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Administration

MM. MAIRET (✲)	Doyen.
SARDA	Assesseur.
IZARD	Secrétaire

Professeurs

Clinique médicale	MM. GRASSET (✲). Chargé de l'enseig[t] de pathol. et thérap. génér.
Clinique chirurgicale	TEDENAT (✲).
Clinique médicale	CARRIEU.
Clinique des maladies mentales et nerveuses	MAIRET (✲).
Physique médicale	IMBERT.
Botanique et histoire naturelle médicales	GRANEL.
Clinique chirurgicale	FORGUE (✲).
Clinique ophtalmologique	TRUC (✲).
Chimie médicale	VILLE.
Physiologie	HEDON.
Histologie	VIALLETON.
Pathologie interne	DUCAMP.
Anatomie	GILIS (✲).
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	ESTOR.
Microbiologie	RODET.
Médecine légale et toxicologie	SARDA.
Clinique des maladies des enfants	BAUMEL.
Anatomie pathologique	BOSC.
Hygiène	BERTIN-SANS (H.)
Pathologie et thérapeutique générales	RAUZIER. Chargé de l'enseignement de la clinique médicale.
Clinique obstétricale	VALLOIS.
Thérapeutique et matière médicale	VIRES.

Professeurs adjoints : MM. De ROUVILLE, PUECH, MOURET.

Doyen honoraire : M. VIALLETON.

Profes. honoraires : MM. E. BERTIN-SANS (✲), GRYNFELTT, HAMELIN (✲).

Secrétaire honoraire : M. GOT.

Chargés de Cours complémentaires

Clinique ann. des mal. syphil. et cutanées	MM. VEDEL, agrégé.
Clinique annexe des maladies des vieillards	LEENHARDT, agrégé.
Pathologie externe	LAPEYRE, agr. lib. ch. de c.
Clinique gynécologique	De ROUVILLE, prof.-adj.
Accouchements	PUECH, profes.-adjoint.
Clinique des maladies des voies urinaires	JEANBRAU, ag. lib. ch. de c.
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	MOURET, profes.-adj.
Médecine opératoire	SOUBEYRAN, agrégé.

Agrégés en exercice

MM. GALAVIELLE.	MM. LEENHARDT.	MM. DELMAS (Paul).
VEDEL.	GAUSSEL.	MASSABUAU.
SOUBEYRAN.	RICHE.	EUZIERE.
GRYNFELTT (Éd.)	CABANNES.	LECERCLE.
LAGRIFFOUL.	DERRIEN.	FLEIG (ch. d. fonct.)

Examinateurs de la thèse :

MM. FORGUE, *Président.*	MM. VIRES, *Professeur.*
RAUZIER, *Professeur.*	GAUSSEL, *Agrégé.*

La Faculté de Médecine de Montpellier déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leur auteur ; qu'elle n'entend leur donner ni approbation, ni improbation

A LA MÉMOIRE DES MÉDECINS DE MA FAMILLE, LES DOCTEURS :

ANTOINE COMTE DE RUFFIEUX
mon trisaïeul maternel (Reims, 1768)

JOSEPH COMTE
mon bisaïeul (Reims, 1790)

JEAN-BAPTISTE COMTE
mon arrière-grand-oncle (Paris, 1788)

PROSPER COMTE
mon grand-oncle (Paris, 1827)

CHARLES COMTE
mon grand-oncle (Paris, 1827)

ACHILLE COMTE
Chevalier de la Légion d'honneur
mon cousin (Paris, 1825)

ANTONIN COMTE
Officier de la Légion d'honneur
mon oncle (Strasbourg, 1865)

A LA MÉMOIRE DU DOCTEUR A. MIQUEL-DALTON

MÉDECIN-CONSULTANT A CAUTERETS

qui m'initia à la médecine thermale.

Hommage ému d'infinie reconnaissance.

A. CORONE.

A MON PÈRE, A MA MÈRE

A MON ONCLE LE DOCTEUR JOSEPH COMTE

MÉDECIN-MAJOR DE 1re CLASSE EN RETRAITE

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

LE DOCTEUR E. FORGUE

PROFESSEUR DE CLINIQUE CHIRURGICALE

MEMBRE CORRESPONDANT DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

ET DE LA SOCIÉTÉ DE CHIRURGIE DE PARIS

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

Hommage de respectueuse admiration et de profonde gratitude.

A MES MAITRES DE LA FACULTÉ ET DES HOPITAUX

A MES MAITRES DE CONFÉRENCES D'INTERNAT

A MES AMIS

A. CORONE.

L'HOMOGÉNÉISATION

DES CRACHATS TUBERCULEUX

AVANT-PROPOS

Nous devons l'idée de ce travail à M. le professeur Gaussel. Il nous l'a suggérée l'an dernier, à l'époque où nous étions attaché, en qualité d'interne, à son service du sanatorium « Bon Accueil ». C'est dans son laboratoire que furent entreprises en mars 1911 nos recherches sur l'homogénéisation des crachats tuberculeux. Elles coïncidèrent avec la publication dans la revue *La Tuberculose* d'un important travail de Besançon et Philibert, qui constitue une remarquable mise au point de la question, et auquel nous avons fait de larges emprunts. Les premiers résultats obtenus par nous furent encourageants. Dès le 11 mai 1911, M. Gaussel et moi communiquions à la Société des sciences médicales de Montpellier un certain nombre d'observations parmi lesquelles quatre étaient particulièrement intéressantes.

Il s'agissait de crachats dans lesquels, après plu-

sieurs examens par le procédé simple de Ziehl-Nelsen, on n'avait pas trouvé de bacilles de Koch, et dans lesquels, après homogénéisation, nous avons pu en déceler un certain nombre.

Depuis lors, notre expérimentation s'est suffisamment étendue pour que, à l'heure actuelle, nous puissions compter près de 150 observations personnelles d'homogénéisation. Ce chiffre, relativement élevé, s'il ne nous permet pas de juger définitivement la valeur générale de la méthode, ni d'établir une comparaison solide entre les procédés par nous employés, nous a paru suffisant pour que nous puissions dire si, dans les conditions ordinaires de technique et d'outillage réalisées dans un laboratoire de clinique par exemple, l'homogénéisation des crachats peut rendre des services.

C'est dans ces conditions que nous nous sommes placé pour effectuer toutes nos recherches ; c'est dans ce but que nous les avons poursuivies. Et il nous est apparu que cette méthode constituait dans bien des cas une ressource précieuse pour le clinicien, surtout s'il emploie le procédé que nous recommandons comme le plus pratique.

Au cours de nos recherches nous avons été vivement intéressé par une question qui s'y rapporte directement et qui est encore à l'étude : celle de la densité des liquides d'homogénéisation. Nous avons essayé d'étudier par nous-même dans un certain nombre de cas l'influence de cette densité; celle aussi, moins bien connue encore, de la viscosité. Nous avons cru pouvoir rapporter également nos expériences sur ce point.

Enfin, avant d'entrer dans l'exposé de nos recherches, il nous a paru bon de résumer l'état actuel de la question.

Notre travail comprendra donc deux parties :

La première, consacrée aux travaux antérieurs, dans laquelle, après avoir fait l'historique de la question, nous exposerons aussi brièvement que possible les diverses méthodes employées, les avantages et les inconvénients des principales d'entre elles.

La seconde, consacrée à nos recherches expérimentales, dans laquelle nous montrerons les résultats obtenus au moyen des trois procédés généralement considérés comme les meilleurs ; cet exposé nous permettra de comparer ces méthodes et de dire quelle est à notre avis la plus avantageuse.

La fin de cette deuxième partie aura trait à la densité des liquides d'homogénéisation et à leur viscosité.

Nous le répétons ici, nous n'avons pas eu la prétention de faire œuvre de bactériologiste. Nous n'étions, pour ce faire, ni suffisamment outillé, ni surtout suffisamment rompu à ce genre de travaux. Notre étude est, beaucoup plus modestement, la contribution que tout étudiant en clinique eût pu écrire, s'il avait eu comme nous-même à sa disposition les ressources qu'offre un sanatorium pour ce genre de recherches.

Malgré ces facilités de travail nous n'eussions pu sans doute mener à bien notre entreprise sans les conseils et les encouragements précieux de notre maître, M. le professeur Gaussel, à qui nous sommes heureux d'exprimer ici toute notre reconnaissance.

Nous adressons aussi des remerciements à notre camarade Arrivat, interne actuel du Sanatorium, pour l'aimable concours qu'en de nombreuses circonstances il a bien voulu nous prêter.

PREMIÈRE PARTIE

REVUE DES TRAVAUX ANTÉRIEURS

CHAPITRE PREMIER

DÉFINITION, BUT, AVANTAGES ET PRINCIPE DE LA MÉTHODE

L'homogénéisation des crachats tuberculeux est une méthode qui a pour but de concentrer sous un volume très restreint les B. contenus dans une masse déterminée de crachats, et par cela même de faciliter leur découverte.

Point n'est besoin d'insister sur l'importance, au point de vue de l'hygiène comme de la clinique et de la thérapeutique, de la découverte des bacilles tuberculeux dans les crachats.

Lorsque les bacilles sont nombreux dans une expec-

toration, rien de plus facile que de les y trouver ; il suffit d'étaler directement le crachat sur une lame de verre et de colorer suivant un des procédés en usage.

Mais les circonstances ne sont pas rares où les B. sont peu nombreux. Il s'agit soit de formes légères de tuberculose, soit de malades au début de leur affection, soit de sujets plus ou moins guéris. C'est dans ces cas justement que l'examen bactériologique a la plus haute importance, et c'est dans ces cas aussi qu'il se heurte aux plus grosses difficultés. Il suffit que les B. soient assez espacés, ou inégalement répartis, pour qu'ils échappent aisément à nos moyens ordinaires d'investigation. En sorte que souvent c'est après plusieurs examens infructueux qu'on arrive à déceler leur présence dans les crachats.

Ce fait bien connu a incité les bactériologistes à opérer sur une certaine quantité de produits d'expectoration ; à condenser, à grouper les B. épars dans cette masse ; à multiplier ainsi le nombre des B. dans les parties soumises à l'examen. C'est là le problème que réalise l'homogénéisation. Une homogénéisation bien faite dépose sur une lame au moins cinq fois plus de bacilles qu'un crachat directement étalé, et très souvent bien davantage. Dans les cas douteux, pour des crachats renfermant très peu de B., elle facilite grandement, rend plus sûre et plus rapide leur découverte. A ce point de vue on a pu dire qu'une homogénéisation valait 10 examens directs.

Et ainsi apparaît tout de suite l'utilité de cette méthode.

Un médecin assiste au développement d'une tuberculose ; l'observation attentive de son malade lui a révélé les premiers symptômes du mal. Va-t-il immédiatement

lancer devant une famille anxieuse le grand mot ? Dans certains cas, à symptomatologie précise, s'il s'agit d'un malade à antécédents suspects, il pourra, il devra même le faire. Evidemment on est tuberculeux bien avant le moment où l'on commence à cracher des bacilles ; et il existe un diagnostic précoce de la tuberculose. Mais il est aussi des cas douteux, dans lesquels le médecin n'osera prendre la responsabilité de cette grave déclaration qu'après avoir *vu* des bacilles dans les crachats de son malade. Or, s'il se contente de faire des frottis, il lui faudra souvent, pour trouver un bacille, faire 2, 3, 5, 10 examens successifs. S'il ne s'agissait que d'une perte de temps, il n'y aurait là qu'un inconvénient. Le grand danger c'est que, se fiant à tort à un certain nombre d'examens négatifs, poussé par une famille qui ne veut pas que la tuberculose soit entrée chez elle, le médecin renonce à son diagnostic. Dans tous les cas, combien d'hésitations pénibles pour lui-même, de tergiversations douloureuses pour l'entourage de son client, n'aurait-il pas évitées peut-être grâce à une homogénéisation ! L'homogénéisation fait rapide et précoce le diagnostic certain, le diagnostic bactériologique de la tuberculose.

Et voici dans un hôpital militaire un soldat qui entre. Il a maigri, présente quelques légers symptômes thoraciques ; le diagnostic de prébacillose a été porté. Un premier examen de crachats est fait ; on ne trouve pas de B. Un deuxième examen quelques jours après est également négatif. On procède alors à une homogénéisation ; elle fait découvrir quelques bacilles. Ce fait s'est présenté à nous-même à cinq reprises différentes ; et il est gros de conséquences. Aussi sommes-nous étonné qu'il n'ait pas encore été signalé.

Nos cinq militaires ont été réformés définitivement. Si

l'homogénéisation n'avait pas été faite, les examens directs ne pouvant être fréquemment répétés, qui à la longue eussent fait découvrir des bacilles, ces soldats n'auraient obtenu qu'une réforme temporaire. Peut-être même, rapidement améliorés en apparence par le repos et une bonne alimentation, eussent-ils rejoint leur corps après un simple congé de convalescence. Grave préjudice pour eux-mêmes ; grand danger pour leurs compagnons.

Les exemples pourraient être multipliés à l'infini pour mettre en évidence l'importance pratique de l'homogénéisation des crachats tuberculeux. Pour être convaincu, il suffit du reste de constater l'effort des chercheurs de tous les pays en vue d'améliorer la technique de cette méthode, de jeter un coup d'œil sur les innombrables procédés nouveaux préconisés chaque année.

Toutes ces méthodes, tous ces procédés sont basées sur le même principe ; tous comportent deux phases :

1° On détruit dans le crachat le stroma, la charpente de mucine dans laquelle les B. sont emprisonnés, immobilisés ; on transforme ainsi la masse visqueuse, épaisse, en une substance fluide, homogène, c'est l'*homogénéisation* proprement dite ;

2° On collecte les B. libérés, épars dans ce liquide où théoriquement ils flottent seuls ; on obtient ainsi, rassemblés sous un volume infime, tous les B. renfermés dans plusieurs centimètres cubes de crachat.

La collection des B. peut du reste s'effectuer par divers procédés. Par sédimentation, ou par centrifugation, on peut les rassembler au fond d'un tube ; dans d'autres cas on les ramène à la surface en incorporant au mélange homogénéisé une substance légère, comme l'éther ou la ligroïne, qui recueille les B. en s'élevant vers les couches supérieures du liquide.

Tels sont le but et le principe de l'homogénéisation des crachats tuberculeux. C'est une question encore à l'étude et sur laquelle peu de travaux ont paru en France. Nous avons puisé la plupart de nos documents dans la littérature allemande. L'Allemagne, patrie de la méthode, est le pays où on l'a le plus étudiée. Notre bref chapitre d'historique va le montrer.

CHAPITRE II

HISTORIQUE

Nées en 1886 des expériences de Biedert, les méthodes d'homogénéisation, malgré de nombreux perfectionnements introduits progressivement dans leur technique, ne sont pas encore entrées dans la pratique courante. Il semble cependant qu'après une assez longue période de défaveur, elles aient acquis depuis 3 ou 4 ans un regain d'actualité. En ce moment, dans les revues consacrées à la tuberculose, c'est une floraison de procédés nouveaux.

Il est intéressant de rechercher comment naquit cette méthode, comment les progrès de l'outillage et les découvertes récentes sur les bacilles l'ont modifiée.

Biedert, dans la *Berliner klinische Wochenschrift* du 18 octobre 1886, commence ainsi son article :

« Deutschmann avait remarqué que lorsque, après avoir laissé déposer du pus, il inoculait les couches

supérieures du liquide, jamais l'animal ne se tuberculisait ; tandis que, en injectant le dépôt, il pouvait révéler sa nature tuberculeuse.

» Cette expérience m'a fait présumer que dans les liquides pauvres en bacilles, c'était dans le dépôt formé après un certain temps que les B. devaient être le plus facilement décelés. »

Appliquant cette notion aux crachats bacillifères, Biedert les fluidifie d'abord avec une solution de soude caustique : c'est le premier temps. Dans un 2e temps, temps de concentration, il abandonne le mélange 48 heures dans un verre conique, décante, et examine le dépôt.

Telle est la méthode de Biedert, l'aïeule des méthodes d'homogénéisation.

Tous les procédés décrits ultérieurement reposent sur le même principe. Voyons comment les deux temps de la méthode primitive se sont modifiés au cours des années.

Pour la *fluidification* des crachats on s'est servi dès le début des alcalins. La lessive de soude, déjà utilisée par Biedert, est encore un des agents le plus employés aujourd'hui. On a également préconisé le borax, l'eau de chaux, l'ammoniaque, l'eau de Javel, et, plus récemment, l'*antiformine* qui est une eau de Javel additionnée d'un excès d'alcalin. D'autres substances, l'alcool, l'acide phénique, la formaline ont été employées, mais sans grand succès. Dès le début aussi on a vanté la simple action de la chaleur : la mucine se désagrégeant à 65°, le crachat se transformerait à cette température en une masse fluide. Les méthodes de Dahmen (1891) et de Hempel (1902) basées sur ce principe sont totalement délaissées.

Enfin, on a également renoncé aujourd'hui à la fluidification des crachats par l'action des ferments. Cette

action avait été déjà utilisée en 1886 par PHILIPPE qui faisait fermenter pendant 24 heures les crachats à l'étuve, et déterminait ainsi leur *auto-digestion* avec destruction de leur stroma et formation d'un dépôt purulent. A l'époque où l'action des ferments digestifs isolés a été étudiée *in vitro*, on a tenté d'appliquer aux crachats leurs propriétés dissolvantes de la matière organisée. Et SPENGLER le premier, en 1895, fluidifiait avec la pancréatine. Quelques années plus tard, JOUSSET faisait connaître sous le nom d'*inoscopie* sa méthode de découverte des B. tuberculeux dans les exsudats ; et, en 1903, il essayait d'appliquer cette méthode générale à l'expectoration des bacillaires, sans grand succès du reste. A l'heure actuelle, — n'était la tentative nouvelle de NEMMSEN et MARTOS-LISSOWSKA (sept. 1911) qui emploient la trypsine et la pancréatine en milieu acide ou alcalin, — on pourrait dire que les ferments n'ont plus qu'une place très secondaire parmi les agents fluidifiants. Les alcalins restent les plus employés.

Quant à la deuxième phase de l'homogénéisation, à la *concentration des B.*, c'est elle qui a surtout exercé l'ingéniosité des chercheurs et qui s'est le plus modifiée.

La *sédimentation* simple des homogénéisations qu'employait BIEDERT est bien abandonnée. Elle a été supplantée très rapidement vers 1891 par la *centrifugation* qui donne des résultats plus rapides et des concentrations meilleures. Pour obtenir mieux encore, certains auteurs, DE LANNOÏSE et GIRARD les premiers, ELLERMANN et ERLANDSEN ensuite, ont utilisé une *double centrifugation*. Le culot obtenu par une première centrifugation est dissous dans un alcalin, et le liquide de nouveau centrifugé ; on obtient ainsi un deuxième culot moins volu-

mineux que le premier et dans lequel par suite les B. sont plus concentrés. C'est là ce qui caractérise la *Doppelmethode* d'Ellermann-Erlandsen ; le principe de cette méthode est ingénieux, mais il convient de rappeler qu'il n'appartient pas en propre à ces auteurs, puisque, 8 ans avant eux, les deux Français cités plus haut l'avaient utilisé.

La valeur de la centrifugation comme procédé de rassemblement des B. a été, ces dernières années, assez vigoureusement battue en brèche, en même temps qu'apparaissait une notion nouvelle : la notion de *densité des homogénéisations*. En 1903 en effet, Nebel, ayant remarqué que dans certaines homogénéisations le liquide surnageant renferme proportionnellement plus de B. que le sédiment, pense que dans ces cas la densité du B. est inférieure à celle du liquide, ce qui expliquerait l'échec de la collection par centrifugation. Il renonce donc à ce procédé et collecte les B. à la surface d'une bougie Berkefeld. Pour lui la *filtration* des liquides homogénéisés donnerait des résultats plus constants.

Dilg, la même année, pousse plus avant ses recherches, et prétend avoir déterminé le poids spécifique du bacille tuberculeux : ce poids spécifique oscillerait, d'après lui, entre 1010 et 1080. Pour obtenir avec la centrifugation de bons résultats, il faut être sûr que la densité du liquide d'homogénéisation est inférieure à ce chiffre. Lui-même préfère employer des homogénéisations « lourdes » et systématiquement recueille les B. après centrifugation, non pas dans le culot, mais dans les couches supérieures du liquide.

C'est à la suite de ces travaux que l'on cherche à opposer à la centrifugation des procédés de *collection par en haut*. En 1909, Haserodt, Bernhardt, Lange

et Nitsche, Jacobson, von Scheven étudient le procédé de la *ligroïne*. La ligroïne est une substance très légère de la famille des éthers du pétrole. Les gouttelettes de cette substance émulsionnées dans l'homogénéisation adhèrent fortement aux B. et les ramènent à la surface où on les recueille.

Bien avant eux, avant Dilg lui-même, un procédé un peu analogue avait été proposé par Courtade-Arnaude : c'est l'éther qui était employé.

Diverses substances ont été depuis lors proposées dans le même but, notamment l'éther-acétone, par Koslow.

Toutes ces recherches, on le voit, ont été déterminées par la suspicion où a été tenue la centrifugation depuis les travaux de Nebel et de Dilg sur la densité des liquides d'homogénéisation. Cette notion de densité n'a nulle part été mieux mise en lumière que dans le travail tout récent et déjà cité de Besançon et Philibert (mars 1911). Nous aurons l'occasion de revenir, à propos de nos recherches personelles, sur les idées, un peu théoriques à notre avis, de ces auteurs. Nous essayerons de montrer alors qu'on a peut-être exagéré l'importance de cette notion de densité ; et que, par contre, il est un élément dont on n'a pas assez dégagé l'influence : c'est la *viscosité* des homogénéisations.

Après ce coup d'œil d'ensemble sur la question, il convient d'entrer dans le détail des divers procédés employés ; nous allons indiquer la technique des plus connus.

CHAPITRE III

TECHNIQUE DES PRINCIPALES MÉTHODES D'HOMOGÉNÉISATION

On peut classer les diverses méthodes d'homogénéisation en trois groupes :

C'est la nature du corps qui sert à fluidifier les crachats, qui est à la base de cette classification.

A. — Méthodes qui emploient un alcalin

I. — Méthode de Biedert (1886)

C'est la première en date. Biedert mélange 15 centimètres cubes de crachats avec 30 centimètres cubes d'eau froide et VIII à XV gouttes d'une lessive de soude à 0,2 %.

Il fait bouillir dans une capsule en agitant et progres-

sivement ajoute encore 60 à 90 centimètres cubes d'eau.

Il abandonne ce mélange 48 heures dans un verre conique, décante, et examine le dépôt.

II. — Méthode de Mulhauser (1891)

C'est la méthode précédente légèrement modifiée.

Mulhauser emploie seulement 1 à 3 cc. de crachat. Il les mélange avec 6 à 8 parties de lessive de soude à 0,2 °/₀ et agite très fortement. Il fait bouillir, laisse déposer et examine.

II. — Méthode de Czaplewski (1900)

Czaplewski fluidifie le crachat comme Biedert, puis il neutralise le liquide homogénéisé en ajoutant de l'acide acétique jusqu'à disparition de la coloration rouge produite par quelques gouttes de phénolphtaléine. Il dilue avec de l'eau et centrifuge.

L'avantage de cette méthode est de soustraire rapidement les B. à l'action nocive de la lessive de Na.

IV. — Méthode de Beitzke

Elle ne diffère pas de la précédente.

Beitzke a simplement précisé les doses.

V. — Méthode de Courtade-Arnaude (1902)

Ce qui caractérise cette méthode, dans laquelle la lessive de Na est encore l'agent fluidifiant, c'est le procédé utilisé pour rassembler les B.

La méthode consiste dans les opérations suivantes :

I. — Faire bouillir en agitant constamment le mélange :

Crachats.....	10 cc.
Eau.....	100 cc.
Lessive de Na.....	X gouttes.

On obtient un liquide assez homogène.

II. — Traiter 20 cc. de ce liquide dans un tube à essai par :

Acide acétique.....	IV gouttes
Ether ordinaire.....	4 cc.

Emulsionner fortement ; il se forme un précipité qui monte très rapidement à la surface du liquide.

III. — Redissoudre ce précipité par la lessive de Na, agiter fortement avec de l'éther et laisser reposer. A la limite de séparation entre le liquide et l'éther on voit se former une pellicule mince, elle est constituée par les B. du liquide que l'éther a entraînés en remontant à la surface.

VI. — Méthode d'Ellermann et Erlandsen (1910)

Cette « Doppelmethode » appartient au groupe que nous étudions puisque, dans la première manipulation, c'est à la lessive de Na qu'on a recours.

Nous aurons ultérieurement l'occasion de la décrire minutieusement à propos de la technique par nous employée.

VII. — Méthode de Besançon et Philibert (1911)

1° Mesurer dans une éprouvette graduée la quantité de crachats que l'on a à sa disposition ; mesurer une quantité d'eau 10 fois supérieure ; mettre le crachat et la moitié de l'eau dans une capsule en porcelaine et ajouter autant de gouttes de lessive de Na, qu'il y a de centimètres cubes de crachat.

Par exemple :

Crachat	10 cc.
Eau	100 cc.
Lessive Na	X gouttes

2° Porter la capsule sur la flamme d'un bec Bunsen et chauffer doucement en agitant constamment. Ajouter petit à petit le reste des 100 cc. d'eau. Chauffer environ 10 minutes.

3° Laisser refroidir l'homogénéisation.

4° Prendre sa densité.

5° Si la densité dépasse 1004, ajouter un peu d'alcool à 50° jusqu'à ce qu'elle soit retombée à 999 ou 1000.

6° Prélever 2 à 4 tubes à centrifuger, et centrifuger 3/4 d'heure à 1 heure.

7° Décanter et étaler le culot sur une lame ou deux suivant l'abondance, laisser sécher.

8° Colorer par la méthode de Zielh-Nelsen.

VIII. — Méthode de Kuehné

On mélange un volume de crachat avec un égal volume de solution saturée de borax.

IX. — Méthode de Wendrimer

Celui-ci, au lieu d'une solution simple de borax, conseille une solution saturée de borax et d'acide borique.

Stroschein (1892) emploie les mêmes dissolvants.

X. — Méthode de Strauss

Après avoir homogénéisé par le borax, Strauss laisse reposer dans un verre conique pendant 24 heures.

Ces méthodes ne donnent pas une homogénéisation plus parfaite des crachats et elles sont plus lentes que les méthodes par la lessive Na.

L'eau de chaux est un des fluidifiants les plus employés. Elle a notamment été utilisée par Nebel (1903) et Pétersen (1906.)

XI. — Méthode de Nebel

Agiter un volume de crachat avec 8-10 vol. d'eau de

chaux. Filtrer le liquide surnageant avec une bougie Berkefeld.

On examine les éléments restés sur le filtre.

Il est à remarquer que Nebel recherche les B. non pas dans le culot, mais dans la partie supérieure du tube. En effet, après des calculs suivant le procédé de Klein, il s'est rendu compte que le culot ne contenait que 12 °/₀ du nombre total des B.

XII. — Méthode de Dilg

C'est à l'ammoniaque qu'il a recours pour fluidifier.

On agite le crachat avec quelques gouttes d'ammoniaque. On ajoute un volume de Na CL à 25 °/₀ égal au volume de l'homogénéisation. Centrifuger. On cherche les bacilles à la partie supérieure du tube et non dans le culot.

B. — **Méthodes qui emploient les ferments**

Tantôt on opère la digestion artificielle du crachat en y ajoutant des sucs digestifs ; tantôt on provoque son auto-digestion en le mettant un temps donné dans des conditions favorables de température.

I. — Méthode de Spengler

Spengler fait un mélange à parties égales de crachat et d'eau tiède alcalinisée par la soude. Il ajoute 0,1 à 1 gr.

de cristaux d'acide phénique. Il centrifuge et examine le culot.

L'acide phénique agit comme désinfectant : il détruit les bactéries banales et diminue d'autant le volume du culot.

L'alcalinisation est nécessaire, car sans elle les enveloppes cellulaires ne sont pas détruites, et le sédiment est dans ce cas trop considérable.

Enfin l'auteur a montré, en faisant agir de la pancréatine sur des cultures de B., que ceux-ci ne sont pas altérés par elle.

II. — Méthode de Jousset

L'*inoscopie*, destinée à mettre en évidence les bacilles contenus dans les humeurs de l'organisme, peut, bien que son auteur ne l'ait pas conseillée dans ce but, être appliquée à l'expectoration.

On utilise le suc gastrique fluoré dont Jousset a donné la formule :

Pepsine en paillettes (titre 50 du Codex)		1 à 2
Glycérine pure HCl (22° Baumé)	*ââ*	10
Fluorure de sodium		3
Eau		1000

Ordinairement ce suc gastrique sert à dissoudre la fibrine du coagulum — spontané ou provoqué — dans lequel les bactéries d'un exsudat sont prisonnières. Ici c'est le crachat qui est digéré.

On prend 10 à 30 cc. de liquide pour un crachat. Séjour à l'étuve à 38°, 2 à 3 heures ; la digestion du

crachat est complète à ce moment-là. Il ne reste plus qu'à centrifuger.

III. — Méthodes de Philippe (1896) et de Jochmann (1902)

Elles cherchent à obtenir une auto-digestion des crachats en les abandonnant à eux-mêmes pendant 24 heures à une température de 37°. Les auteurs prétendent que les B. se multiplient et qu'on les trouve beaucoup plus nombreux dans le dépôt purulent formé.

Ces méthodes d'auto-digestion donnent des résultats très inconstants.

C. — Méthodes qui emploient des substances diverses

1. — Méthode d'Aman

On agite le crachat avec du chloroforme et avec des fragments de plomb et on laisse déposer.

II. — Méthode de Hempel (1902)

Dans cette méthode les crachats sont soumis à une double action :

1° Action de la chaleur. On les chauffe à 65-75° ; à cette température la mucine se désagrège et on obtient un liquide déjà fluide ;

2° Action du HCl à 1/10. On agite 10 cc. d'homogénéisation avec 1 cc. de ce HCl. On ajoute 1 cc. de réactif de Brücke. On laisse déposer.

Cette méthode — de l'avis de son auteur lui-même — n'est applicable qu'aux crachats peu purulents, surtout muqueux.

III. — Méthode de Van Ketel (1904)

C'est l'acide phénique qui est l'agent fluidifiant.

Il mélange :

Crachats	10 à 25
Eau	10
Acide phénique	6

Il agite et ajoute :

Eau	100 cc.

Puis laisse déposer dans un verre conique. Il prend au bout de 24 heures les couches inférieures du dépôt pour ses préparations.

IV. — Méthode de Quensel (1901)

Il mélange :

Crachat	2 vol.
Formaline à 25 °/₀	1 —
Alcool à 90°	1 —

Agiter et contrifuger.

V. — Méthode de Sorgo

Ici c'est l'eau oxygénée qui est l'agent fluidifiant. Sorgo reconnaît lui-même que sa méthode comporte des manipulations difficiles qui la rendent peu pratique.

Sachs-Muke utilise aussi l'eau oxygénée. Son procédé présenterait, d'après Mc Farland, quelques avantages.

VI. — Méthode de Strassburger (1900)

L'alcool à 90° est seul employé dans cette méthode.

Mais les plus importantes des méthodes de ce 3e groupe sont sans conteste celles qui utilisent les hypochlorites alcalins ; la méthode de l'eau de Javel en est une ; la méthode de l'antiformine, avec ses variantes diverses, en est une autre.

VII. — Méthode de De Lannoïse et Girard (1900)

De Lannoïse et Girard se servent d'eau de Javel.
Ils mélangent:

Crachats.....	1 vol.*
Eau de Javel.....	10 —

Après avoir agité, on centrifuge, on décante, et sur le culot on verse V à VI gouttes d'une solution de NaOH.

Puis on achève de remplir le tube d'eau et on centrifuge à nouveau.

Le dernier culot obtenu après *cette double homogénéisation* est examiné au microscope.

VIII. — Méthode de l'antiformine de Uhlenhut et Xylander (1909)

L'antiformine qui est ici employée est constituée par le mélange d'un hypochlorite alcalin en solution faible 10 % et d'un hydrate alcalin, mélange fait dans des proportions déterminées. En somme, c'est une eau de Javel additionnée d'un excès d'alcalin.

Ce corps jouit de la propriété de tuer rapidement toutes les bactéries, sauf les B. tuberculeux et les B. acido-résistants, de même qu'il détruit les tissus organiques. Cette propriété est due à la double action du chlore à l'état naissant et de l'alcalin libre.

La technique est la suivante : On mélange le crachat avec une certaine quantité d'antiformine à 15 %, variable suivant le degré de consistance de l'expectoration, on agite ensuite énergiquement, puis on centrifuge.

Telle est la méthode suivie par Uhlenhut et Xylander et que depuis lors plusieurs auteurs ont expérimentée en la modifiant parfois, notamment Frankenburger, Huene, Lagrèze, Meyer, Schult, Seemann, Scheven et Thilenius.

IX. — Méthode de l'antiformine-ligroïne (Haserodt)

Un volume déterminé de crachat est homogénéisé avec un volume 3 ou 4 fois plus considérable d'une solu-

tion d'antiformine à 5 %. On laisse le mélange 24 heures dans l'étuve à 37°. On ajoute alors 1 à 3 cc. de ligroïne ; on agite et on chauffe au bain-marie à 60° pendant 10 minutes le crachat homogénéisé. Il se forme alors une mince pellicule à la surface ; c'est là qu'on prélève à l'aide d'une spatule de platine les matériaux de la préparation.

La ligroïne qui est employée ici est une substance de la famille des éthers de pétrole. Elle permet d'obtenir la concentration des bacilles sans avoir recours à la centrifugation, et cela par le mécanisme suivant : les gouttelettes de cette substance adhèrent aux B. et en remontant en haut, grâce à leur faible densité, accumulent tous les B. à la surface.

Cette méthode a été employée, avec ou sans modifications, par Bogason, Lange et Nitsche, Kögel.

CHAPITRE IV

APPRÉCIATIONS PORTÉES PAR DIVERS AUTEURS SUR LES PRINCIPALES MÉTHODES

Telles sont les différentes méthodes employées pour l'enrichissement des préparations en B.

De ces méthodes les unes sont complètement abandonnées : celles de Biedert, de Jousset, etc.

D'autres ont une valeur plus ou moins discutée. Quelques travaux ont été faits pour essayer de comparer, au point de vue des résultats, ces diverses méthodes.

Parmi ces travaux il convient de citer ceux de :

1° Ellermann-Erlandsen. — Ils comparent la valeur respective de 7 méthodes, et les rangent, au point de vue de la puissance de concentration, dans l'ordre suivant :

Doppelméthode, Auto-Digestion, Philippe, Hempel, Spengler, Mülhäuser, Stroschein.

En établissant des moyennes ils sont arrivés à représenter la puissance de concentration de ces diverses méthodes par les chiffres suivants : 15, 7, 5, 3, 2, 1, 1.

Leur Doppelméthode tient la tête. En dehors d'elle ils recommandent particulièrement la méthode d'Auto-Digestion, qui rassemblerait dans le sédiment jusqu'à 80 °/₀ des B. ; et la méthode de Hempel (en s'en tenant à la première manipulation) qui possède deux avantages : elle est rapide, ne demande que 8 à 10 minutes ; elle stérilise l'expectoration.

2° Jorgensen. — Dans la *Zeitschrift für Hygiene*, en 1910, il met en parallèle la méthode d'Ellermann-Erlandsen, l'antiforminméthode, celle de l'antiformine-ligroïne, et la méthode d'auto-digestion. Il conclut ainsi : « L'antiforminméthode, selon la technique que j'ai indiquée, et la méthode de l'antiformine-ligroïne donnent des résultats au moins aussi bons que l'auto-digestion. Aucune de ces méthodes cependant ne peut être mise sur le même rang que la doppelméthode d'Ellermann-Erlandsen au point de vue de la puissance de concentration.

3° Hertzfeld. — Dans le même journal, la même année, il compare les méthodes de l'antiformine, d'Ellermann-Erlandsen, de la ligroïne. Il préconise surtout les deux premières : la méthode de l'antiformine particulièrement recommandable pour le praticien, parce que rapide et ne nécessitant aucun outillage spécial (on peut remplacer la centrifugation par la sédimentation) ; la doppelméthode devant être employée de préférence dans toutes les cliniques et dans les sanatoria.

4° Besançon et Philibert. — Ils comparent l'antiformine-ligroïne à la lessive de soude et donnent l'avantage à cette dernière.

5° On pourrait citer encore les travaux moins importants de Rosenblatt. M. Farland, von Bocchia ; dans le même ordre de recherches, il conviendrait de

signaler enfin celles de Bierotte, Hempel, Beitzke, Pinkus, Anglada.

De l'ensemble de ces travaux semble ressortir la conclusion qu'au point de vue de la concentration des B., trois méthodes occupent le premier rang : celles d'Ellermann-Erlandsen, de l'antiformine, de la lessive de soude.

Ce sont celles que nous avons expérimentées et dont nous allons, dans la deuxième partie de ce travail, rapporter les résultats, après avoir insisté sur leur technique.

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES PERSONNELLES

CHAPITRE PREMIER

CONDITIONS GÉNÉRALES D'EXPÉRIMENTATION ET PLAN DES RECHERCHES

Avant d'entrer dans le détail de nos recherches sur chaque méthode, il nous paraît bon d'indiquer les règles générales que nous avons suivies dans nos expériences.

1° D'abord toutes les fois que nous comparons les résultats d'un *examen direct* examen après étalement simple d'un crachat) avec les résultats de l'examen après homogénéisation, il est bien entendu que ces deux préparations ont été faites le même jour, avec des matériaux prélevés sur le même échantillon. Cette observation nous

paraît importante ; on sait en effet que le nombre des B. expectorés par un malade peut d'un jour à l'autre subir d'assez importantes variations.

2° Pour nos examens directs, nous avons toujours prélevé dans l'expectoration les parties les plus épaisses, celles qui paraissaient devoir contenir le nombre maximum de B.

3° Nous donnons pour chaque préparation les nombres moyens de bacilles vus dans un champ ; ces chiffres, naturellement approximatifs, ont été obtenu par l'examen attentif de 20 champs au minimum ; souvent de 50 à 60 champs.

4° Nos préparations ont été centrifugées dans une des machines électriques de Cogit (1500 tours à la min.).

5° Nos examens ont été pratiqués avec le microscope Leitz-Wetzlar. Oculaire 3. Objectif immersion 1/12.

Nous allons maintenant, dans les trois chapitres suivants, exposer pour chacune des trois méthodes signalées la technique suivie et les résultats obtenus.

Dans un quatrième chapitre, nous montrerons les résultats généraux fournis par l'homogénéisation des crachats.

Nous comparerons ensuite les trois procédés employés et dirons pourquoi c'est à la méthode de la lessive de Na que nous donnons la préférence.

Enfin pour finir et en réponse à des critiques adressées à cette dernière méthode, nous exposerons nos recherches sur la densité et la viscosité des liquides d'homogénéisation.

CHAPITRE II

MÉTHODE DE LA LESSIVE DE SOUDE

I.— Technique.

La technique que nous avons suivie est empruntée à la méthode de COURTADE-ARNAUDE. Nous fluidifions nos crachats de la même manière, avec les mêmes doses que lui. Nous ne nous en séparons que pour la collection des B.; tandis que lui adopte son procédé spécial à l'éther, nous employons la centrifugation.

Notre technique est également celle de BESANÇON et PHILIBERT, avec cette différence que nous avons fait abstraction de la densité de nos homogénéisations.

Voici d'ailleurs exposée dans ses détails notre technique :

1° Mesurer dans une éprouvette graduée, ou tout simplement dans un tube à essai dont on connaît la contenance, une quantité donnée de crachats. Mesurer une

quantité d'eau 10 fois supérieure; mettre le crachat et la moitié de l'eau dans une capsule en porcelaine et ajouter autant de gouttes de lessive de Na qu'il y a de centicubes de crachat.

Par exemple :

Crachat	10 cc.
Eau.....	100 cc.
Lessive Na.....	X gouttes.

2° Porter la capsule sur la flamme d'un bec Bunsen et chauffer doucement en agitant constamment. Ajouter petit à petit le reste des 100 cc. d'eau. Chauffer environ 10 minutes.

3° Prélever 1 ou 2 tubes à centrifuger et centrifuger 3/4 d'heure.

4° Décanter et étaler le culot sur une lame. Laisser sécher.

5° Colorer par la méthode de Ziehl-Nelsen.

II. — **Résultats.**

1° 73 homogénéisations par ce procédé ont été faites.

2° Dans 32 cas, on n'a trouvé de B. ni par l'examen direct ni par l'examen du culot de centrifugation. Ces 32 observations se rapportent vraisemblablement à des sujets non tuberculeux ou à des malades qui ne crachaient pas de B.

3° Dans 4 cas les B. trouvés dans le culot de centrifugation étaient moins nombreux que dans le crachat directement étalé. Ce sont les *cas négatifs*.

4° Dans 26 cas le nombre des B. a été multiplié dans

des proportions variables. Nous rapportons ces observations dans le tableau ci-dessous.

Tableau I

Observations		Examen direct Nombre de B. par champ	Examen après homog. Nombre de B. par champ
1	Sanat. Sal...	4	30
2	— Lar...	0,3	3
3	— Mar...	2	20
4	— Vib...	8	40
5	— Raul..	0,05	1
6	— Léon..	3	8
7	— Mar...	6	6
8	— Tes...	2	3
9	— Reg...	4	12
10	— Gin...	0,1	15
11	— Red...	2	10
12	— Rau...	0,1	5
13	— Dar...	8	15
14	— Via...	3	3
15	— Grau..	3	10
16	— Hil...	0,2	12
17	— Dan...	1	1,5
18	— Bon...	1	3
19	— —	3	5,6
20	— —	5	31
21	— —	40	100 à 200
22	Salle Laennec.	0,06	20
23	— —	1,5	1,5
24	Salle Combal.	10	100
25	— —	0,1	10
26	— —	10	50

5° Dans 11 cas enfin, et ce sont de beaucoup les plus intéressants, on a trouvé après homogénéisation des

bacilles plus ou moins nombreux, **alors qu'un ou plusieurs examens antérieurs avaient été négatifs.**

Nous réunissons ces cas dans le tableau suivant :

Tableau II

Observations	Avant homog. Nombre d'examen directs négatifs	Après homog. Nombre de bacilles dans 60 ch amps
1 Sanat. Fra.	1	12 B.
2 — Esp.	2	130
3 — Bres.	2	60
4 — Lav.	1	20
5 — Dur.	2	60
6 — Bre.	2	48
7 Laennec 3	2	9
8 — 7	2	20
9 — 24	2	10
10 — 26	2	15
11 — 20	1	4

Des chiffres que nous avons donnés il est surtout intéressant de retenir ceux-ci :

1° Sur 73 cas, nous avons eu 4 cas négatifs. C'est donc une proportion de 5,5 % de cas dans lesquels le nombre des B., après homogénéisation, a été inférieur à ce qu'il était dans le crachat directement étalé.

2° 11 fois avec cette méthode on a pu découvrir des B. dans des crachats où les procédés ordinaires n'avaient pas permis d'en trouver.

CHAPITRE III

MÉTHODE D'ELLERMANN ET ERLANDSEN

I. — Technique.

1° Un volume de crachats (10 à 15 cc.) est mélangé dans une éprouvette graduée avec un demi-volume de carbonate de Na à 6 %. Le mélange est placé dans l'étuve à 37° et y reste 24 heures.

2° La plus grande partie du liquide surnageant est jetée et le dépôt est centrifugé.

3° Après centrifugation le dépôt est mélangé avec 4 fois son volume d'une solution de NaOH à 0,25 %. On agite soigneusement et on chauffe.

4° On centrifuge de nouveau.

Telle est la technique exacte de cette *doppelméthode* dont le principe du reste n'est pas nouveau, puisque DE LANNOÏSE et GIRARD avaient déjà dans leur méthode employé une double homogénéisation.

Comme on le voit, on obtient un premier dépôt riche en B. Ce dépôt obtenu par l'auto-digestion du crachat renferme 80 à 90 % des B. de l'expectoration. Il s'agit

alors de réduire son volume ; on y arrive en le chauffant avec la lessive de Na.

II. — Résultats.

Suivant cette technique, voilà les résultats auxquels nous sommes arrivé :

1° 33 homogénéisations ont été faites suivant cette méthode ;

2° Dans 16 cas on n'a pu trouver de B. ni par l'examen direct, ni par homogénéisation ;

3° Dans 2 cas les B. trouvés dans le culot de centrifugation étaient plus espacés que dans la préparation directe ;

4° Dans 11 cas, le nombre des B. a été augmenté dans les proportions que voici :

Tableau III

Observations	Exam. direct. Nombre de B. par champ.	Exam. après hom. Nombre de B. par champ.
1 Sal...	4	15
2 Bon...	10	50
3 Mar...	7	40
4 Tes...	2	40
5 Gen...	0,1	3
6 Red...	2	2
7 Dar...	8	20
8 Via...	3	1
9 Gran..	3	18
10 Raul..	0,1	3
11 Hil...	0,2	40

5° Dans 4 cas enfin on a découvert, grâce à cette homogénéisation, des B qui avaient échappé à des examens antérieurs.

Nous les réunissons dans le tableau suivant :

Tableau IV

	Observations	Avant homog. Nombre d'examens directs négatifs	Après homog. Nombre de B. dans 60 champs
1	Sanat. Lav...	1	10
2	— Hern..	3	6
3	— Esp...	2	20 à 30
4	— Bres...	2	3

6° De ces résultats deux sont surtout à retenir :

a) Nous avons eu sur 33 observations 2 cas négatifs, soit une proportion de 6 %. Cette proportion est la même que pour la méthode précédente ;

b) Cette méthode nous a permis quatre fois de découvrir des B. dans des expectorations qui paraissaient n'en pas contenir.

CHAPITRE IV

MÉTHODE DE L'ANTIFORMINE

Procédé de Lorenz (1911)

I. — Technique.

C'est d'après le procédé de Lorenz que nous avons appliqué la méthode de l'antiformine. Ce procédé n'est qu'une variante de la méthode générale d'Ulhenhut.

Celle-ci présente trois défauts :

Elle n'augmente que faiblement le nombre des B. dans les préparations.

C'est un procédé lent.

Le sédiment enfin adhère mal à la lame porte-objet.

Le procédé de Lorenz semble échapper à ces critiques. Sa technique est très simple :

1° Mélanger 2 à 10 cc. de crachat avec une quantité double ou triple d'une solution faible d'antiformine à 15 %;

2° Faire bouillir ce mélange ;

3° Centrifuger pendant un quart d'heure.

Le sédiment ainsi obtenu est très peu abondant, mais d'autant plus riche en B. ; 200 cc. de crachat donneraient, d'après l'auteur, 1/4 de cc. de sédiment.

La préparation adhère bien à la lame, ce qui n'est pas la règle pour les culots obtenus dans la méthode de l'antiformine.

II. — Résultats.

Nous avons suivi point par point cette technique et obtenu les résultats suivants :

1° 24 homogénéisations ont été faites avec ce procédé.

2° En 12 cas, il s'agissait de malades ne crachant sans doute pas de B. L'homogénéisation naturellement n'a pu en révéler.

3° Dans 2 cas, les bacilles ont été moins nombreux après centrifugation qu'avant.

4° Dans 9 cas, le chiffre des B. a été multiplié dans des proportions variables, dont le tableau suivant donnera une idée :

Tableau V

Observations	Examen direct. Nombre de B. par champ.	Après homog. Nombre de B. par champ.
1 Sal	4	20
2 Léon...	2	8
3 Marc...	7	12
4 Tess...	2	8
5 Gini...	0,1	3
6 Ren....	2	2
7 Raul...	0,1	3
8 Vial....	3	4
9 Bres...	0,2	1

5° Dans 2 cas, le procédé de LORENZ a permis de trouver des B. là où la méthode ordinaire n'en n'avait pas décelé.

Tableau VI

Observations	Avant homog. Nombre d'examens directs négatifs.	Après homog. Nombre de B. dans 60 champs.
1 Sanat. Lav...	1	5
2 — Esp...	2	4

Ici encore comme dans les méthodes précédentes nous pouvons mettre en évidence les deux faits suivants:

1° Sur 24 cas, nous avons eu 2 cas négatifs, soit une proportion de 8 °/₀.

2° Sur 24 recherches faites par ce procédé sur des crachats considérés comme non bacillifères, deux fois nous avons trouvé des B.

CHAPITRE V

RÉSULTATS GÉNÉRAUX

De l'ensemble de ces trois groupes d'observations on peut tirer des conclusions au sujet de la valeur de la méthode de l'homogénéisation considérée à un point de vue très général.

En résumé, nous avons eu l'occasion de pratiquer, sur 59 malades, 130 homogénéisations.

Nous avons eu 8 cas négatifs, c'est-à-dire une proportion de 6 % environ de cas dans lesquels l'homogénéisation a été totalement inutile.

A part ces 8 cas, chez tous les autres malades qui crachaient des B., le nombre de ceux-ci sur la préparation a été multiplié, dans des proportions variables, par l'homogénéisation.

Il est intéressant de rechercher dans quelles proportions on arrive, dans la majorité des cas, à multiplier le nombre des B. On peut facilement y arriver grâce à une statistique très simple.

En se rapportant à nos tableaux, sur 46 cas observés le nombre des B. a été multiplié :

Par 30 et au delà dans 9 cas, soit 20 %
Par 10 et au delà dans 14 cas, soit 30 %
Par 5 et au delà dans 24 cas, soit 52 %
Par 3 et au delà dans 32 cas, soit 70 %

D'une manière générale, on peut donc dire qu'on arrive assez aisément, en homogénéisant des crachats, à *quintupler* le nombre des B. comptés dans un champ de microscope.

Mais le plus intéressant parmi les résultats obtenus est le suivant :

Dans 12 cas, sur 12 malades différents, l'homogénéisation par l'une ou l'autre des méthodes employées, a permis de trouver des B. chez des sujets pour lesquels le diagnostic était hésitant; notamment 5 soldats furent ainsi reconnus tuberculeux, alors qu'on les croyait seulement en imminence de tuberculose et alors que l'examen direct avait été à deux reprises négatif.

Un autre fait nous a naturellement frappé, c'est l'inégalité des résultats obtenus.

Dans certains cas, le nombre des B. est multiplié par 100, 200, 300; dans d'autres, il est, à peu de chose près, le même sur la préparation directe et dans l'homogénéisation. Nous verrons plus bas ce qu'il faut penser de ces inégalités et si l'on peut les expliquer par des différences de densité des homogénéisations selon la théorie de Besançon.

Enfin, en examinant nos chiffres, on voit que les concentrations que nous avons observées sont en général notablement inférieures à celles que d'autres auteurs ont obtenues en expérimentant les mêmes

méthodes. Il est possible que des erreurs de technique se soient glissées dans notre expérimentation ; mais il est plus vraisemblable d'admettre que cette infériorité relative provient, soit d'une centrifugation moins puissante, soit d'une méthode différente de numération.

CHAPITRE VI

ESSAI DE COMPARAISON DES MÉTHODES EMPLOYÉES

AVANTAGES DE LA MÉTHODE PAR LA LESSIVE DE SOUDE

Le faible nombre de nos observations ne saurait nous permettre de porter un jugement ferme sur la valeur respective des méthodes expérimentées. Si toutefois on voulait tenter de les mettre en parallèle, on pourrait peut-être établir entre elles des rapprochement à 4 points de vue :

I. — Degré de concentration des B.

II. — Rapidité des opérations.

III. — Simplicité de l'outillage.

IV. — Degré d'altération des B.

1° Quelle est, de ces méthodes, celle qui donne *les préparations les plus riches en B.?*

Pour le savoir, il suffit d'examiner les cas dans lesquels les trois méthodes ont été appliquées concurremment au même échantillon de crachats et l'on peut, dans ce but, dresser le tableau ci-dessous :

Tableau VII

Observations		Nombre de bacilles comptés dans un champ			
		Ex. direct.	Less. Na	Doppelméth.	Lorenz
1	Sal...	4	30	15	20
2	Mar...	7	6	40	12
3	Tess...	2	3	40	8
4	Gin...	0,1	15	3	3
5	Red...	2	10	2	2
6	Raul..	0,1	5	1	3
7	Via	3	5	1	4
	Totaux :	18	72	102	52

Il est facile de voir que la puissance de concentration de chaque méthode peut s'exprimer mathématiquement sous la forme d'un rapport.

Un des termes de ce rapport est le chiffre obtenu en additionnant les nombres moyens de B. comptés dans un champ de la préparation après homogénéisation.

L'autre terme est la même somme faite avant l'homogénéisation.

Nous pouvons donner à ce rapport le nom de *coefficient de concentration.*

La valeur de ce coefficient est :

a) pour la lessive de Na 72/18 = 4
b) pour la doppelméthode 102/18 = 5,6
c) pour l'antiformine 52/18 = 3,4

Ces chiffres 4, 5,6, 3,4, représentent exactement la valeur respective des trois méthodes au point de vue de la puissance de concentration et pour la série d'expériences que nous envisageons.

Au lieu de ne considérer que les sept homogénéisations ci-dessus, on pourrait également établir les mêmes rapports en se servant des chiffres de toutes nos observations.

En élargissant ainsi la base du calcul de ce *coefficient de concentration*, on voit que pour chaque méthode sa valeur reste sensiblement la même. Nous avons en effet obtenu :

Pour la lessive Na le rapport..	448/117 =	4,1
Pour la doppelméthode »	220/39 =	5,8
Pour l'antiformine »	61/20 =	3

Les chiffres coïncident assez bien.

Nous pouvons donc admettre — d'accord en cela avec la plupart des auteurs — qu'au point de vue de la puissance de concentration, c'est la doppelméthode qui tient la tête; viennent ensuite les méthodes de la lessive Na et de l'antiformine.

2° Au point de vue de la *rapidité de concentration* cet ordre de classement ne peut être maintenu :

La « Doppelmethode », qui nécessite le séjour à l'étuve pendant 24 heures des crachats, est la plus longue.

Le lessive de Na et le procédé de Lorenz sont au contraire des méthodes extemporanées, l'avantage restant peut-être à la méthode Lorenz qui demande une centrifugation moins prolongée.

3° Au point de vue de la *simplicité de l'outillage*, ce sont encore ces deux méthodes qui l'emportent.

La double méthode d'Ellermann-Erlandsen suppose,

en effet, que l'on a à sa disposition une étuve en plus du centrifugeur.

Pour les autres il suffit, mais il est nécessaire d'avoir la machine à centrifuger. Est-ce là une condition *sine quâ non?* Pourra-t-on, au contraire, perfectionner la méthode de telle sorte qu'une simple sédimentation suffise? Ce serait un progrès considérable, car on mettrait ainsi à la disposition du praticien une méthode de diagnostic qui a une valeur réelle.

4° On a reproché à ces méthodes d'altérer les B. et on a particulièrement incriminé la méthode de la lessive Na.

Ce reproche est absolument injustifié pour la « Doppelmethode » qui, à ce point de vue aussi, reste une méthode très sûre.

Les deux autres procédés ne déforment les B. que si on laisse bouillir trop longtemps les liquides d'homogénéisation ; dans ce cas, on peut trouver dans les préparations de nombreux débris provenant de la destruction des B. Mais si on fait simplement chauffer jusqu'à l'ébullition, on obtient des préparations où les B. sont normaux de forme et faciles à colorer.

5° La conclusion générale qui semble découler de ce parallèle, c'est que, dans la pratique habituelle, c'est à la méthode de la lessive Na qu'on devra avoir recours ; elle donne des résultats satisfaisants au point de vue de la concentration des bacilles ; elle est relativement rapide, ne nécessite pas un grand outillage et n'altère pas sensiblement les bacilles.

6° Elle n'est pourtant pas exempte de toute critique ; une des plus graves qui lui aient été adressées (ce reproche atteint du reste toutes les méthodes d'homogénéisation), c'est l'inégalité des résultats obtenus. Il est frap-

pant de voir, à côté de cas où l'enrichissement des préparations en B. est énorme, des cas où il est nul.

On a cherché une explication de ces inégalités. Besançon croit l'avoir trouvée dans le fait que les liquides d'homogénéisation ont des densités différentes. Dès lors il prétend qu'en ramenant avant de centrifuger la densité des homogénéisations à une valeur déterminée, 1000 par exemple, on doit obtenir des résultats plus constamment meilleurs.

Ce sont ces idées que nous allons discuter dans le chapitre suivant.

CHAPITRE VII

DENSITÉ DES LIQUIDES D'HOMOGÉNÉISATION

Procédé de Besançon. — Critique. — Recherches expérimentales sur la densité et la viscosité.

C'est à Nebel et à Dilg, nous l'avons vu, que revient le mérite d'avoir les premiers montré l'influence de la densité des homogénéisations sur le mode de concentration des bacilles. Depuis ces travaux, beaucoup d'auteurs se sont préoccupés de cette influence. Ellermann et Erlandsen l'ont étudiée dans des expériences très précises. Ces expériences, du reste, on peut le noter ici, ne répondaient pas aux conditions de la pratique courante, puisque ces auteurs expérimentaient sur des émulsions de B. dans des solutions salines ou gommeuses et non dans des crachats plus ou moins épais. Ils ont montré qu'en augmentant dans de larges proportions la densité

de leurs solutions, la sédimentation des B. se faisait de plus en plus mal. Ils ont même représenté par des courbes ingénieuses l'influence de ces larges variations de densité sur la collection des B.

Auclair et Paris ont fait également des recherches sur ce sujet.

Nul n'a attaché à cette notion de densité autant d'importance que Besançon.

« Seule, dit-il, à propos de critiques adressées à la méthode de la lessive de Na, l'inégalité des résultats est à considérer ; mais elle est à mettre sur le compte de la densité de l'homogénéisation. »

On n'est pas plus catégorique.

Donc, pour lui, si la méthode de la soude donne des résultats inégaux, c'est que les liquides centrifugés n'ont pas la même densité.

Par conséquent : En abaissant dans tous les cas à 1000 cette densité, d'une part on facilite la collection des B. et on obtient un enrichissement meilleur des préparations, d'autre part on rend constants les résultats.

La conclusion pratique de ce raisonnement est qu'il propose, dans le procédé qui porte son nom, d'ajouter systématiquement, à tous les liquides d'homogénéisation dont la densité dépasse 1004, une quantité d'alcool suffisante pour abaisser à 1000 ou au-dessous cette densité.

Ces idées de Besançon, à les analyser de près, ne sont pas aussi justes qu'elles le paraissent au premier abord ; les avantages de son procédé ne sont pas aussi évidents qu'il peuvent le sembler, et les résultats qu'il a donnés entre nos mains sont loin d'être en sa faveur.

Ce sont les points que nous allons développer dans ce chapitre.

Tout d'abord, à rester dans le domaine de la théorie, le procédé de Besançon est-il bien fondé? En d'autres termes, peut-on vraiment expliquer l'inégalité des résultats fournis par la méthode de la soude, simplement par les différences de densité des homogénéisations. Cela ne nous paraît pas possible.

En effet, il est bien démontré que les grosses différences de densité entraînent des variations notables dans le nombre des B. qui gagnent le fond du tube à centrifuger. Mais les différences qui existent entre les densités des homogénéisations par la soude ne sont pas de cet ordre. La densité de ces liquides varie dans de très étroites limites. Très rarement elle descend au-dessous de 999 ; jamais nous ne l'avons vue s'élever au-dessus de 1007.

Il faut donc admettre que des variations aussi minimes agissent sur la collection des B. Et cela est loin d'être prouvé. Si on pouvait considérer les B. comme des corps de densité bien déterminée, flottant seuls, absolument libres dans le liquide à centrifuger, on comprendrait à la rigueur que des variations même faibles dans la densité de celui-ci facilitent où gênent leur précipitation. Mais il n'en est rien. Pour si parfaite que soit une homogénéisation, elle contient toujours des flocons de mucine, des débris cellulaires, que la centrifugation va amener au fond, et qui vont entraîner avec eux la grande majorité des bacilles, quel que soit leur poids spécifique.

Donc, seules existent de faibles différences de densité pour les liquides d'homogénéisation par la lessive de soude, et elles sont incapables à elles seules d'influencer efficacement la collection des B., à plus forte raison d'expliquer les énormes inégalités observées dans les résultats.

La base théorique du procédé de Besançon ne nous semble donc pas très solide.

Quant aux résultats qu'il a donnés entre nos mains, ils ne lui sont guère favorables.

Nos expériences montrent d'abord, d'une manière générale, qu'il ne faut pas exagérer l'influence de la densité ; et plus spécialement que le procédé de Besançon et Philibert ne donne pas de résultats bien avantageux.

Elles semblent aussi mettre en évidence le rôle peut-être prépondérant, dans la production des inégalités de résultats, d'un facteur nouveau que Besançon n'a pas signalé : la *viscosité* des homogénéisations.

Voici, du reste, le compte rendu succinct de nos expériences :

Nous pouvons les diviser en deux groupes :

Dans le premier, nous opérions sur des solutions artificiellement préparées qui représentaient fictivement les liquides d'homogénéisation, tandis que les poudres inertes tenues en suspension figuraient les corps bacillaires.

Dans le deuxième, nous nous sommes placé dans les conditions de la pratique.

Premier groupe d'expériences

Expérience I

Influence de la densité des liquides

1° On prépare 3 solutions dont on mesure les densités :

Solut. 1. Gomme arabique + eau ..... D = 1015.
— 2. Gomme arabique + eau alcoolisée D = 1010
— 3. Gomme arabique + eau alcoolisée D = 986

2° On ajoute aux 3 solutions des poids égaux de poudre de litharge ; on agite.

3° On constate au bout d'un temps donné que le dépôt formé dans le tube III est *très légèrement* supérieur à à ceux des tubes I et II ; ces derniers sont sensiblement égaux.

Conclusion. — *L'influence de la densité, à peine sensible quand il s'agit de grosses variations* (1015-986), *devient à peu près nulle pour les petites différences* (1015-1010).

Expérience II

Influence de la densité des corps en suspension

1° On agite dans des volumes égaux d'eau pure des volumes égaux des poudres suivantes : litharge, charbon, lycopode.

2° On centrifuge.

3° Au bout d'un temps donné, on constate que c'est la poudre la plus lourde qui a été la première précipitée, ce qui est tout naturel. Les poudres de charbon et de lycopode, bien que plus légères que l'eau, ont été en majeure partie entraînées au fond.

Conclusion. — Comme il fallait s'y attendre, le poids spécifique des corps en suspension intervient pour faciliter ou gêner la centrifugation. Mais, — et c'est là le fait

intéressant, — *on arrive à centrifuger des corps dont le poids spécifique est de beaucoup inférieur à celui du liquide qui les tient en suspension.*

Expérience III

Influence de la viscosité

1° On prépare dans 4 éprouvettes des solutions de densité égale et de composition différente :

Eprouv. 1. Eau + gomme arabique D = 1004
— 2. Eau + glycérine..... D = 1004
— 3. Eau + CO^3Na^2..... D = 1004
— 4. Eau + NaCl..... D = 1004

Les deux premiers liquides sont visqueux.

2° Au même moment on verse dans ces 4 éprouvettes un poids égal de poudre de litharge.

3° On agite.

4° On surveille de demi-heure en demi-heure les progrès de la sédimentation. On constate que les deux premières éprouvettes (liquides visqueux) restent troubles longtemps après que les deux autres se sont clarifiées.

Conclusion. — *La viscosité intervient — indépendamment de la densité — dans la sédimentation des corps en suspension dans les liquides; et son action est très sensible.*

Deuxième groupe d'expériences

Ici nous opérons sur des crachats homogénéisés par la lessive de soude.

Expérience IV

Influence des variations de densité des liquides et influence de la dilution par l'alcool à 50°

1° Un crachat fournit une homogénéisation de densité variant entre 1000 et 1006 (ce sont les chiffres entre lesquels oscille la densité de la presque totalité des homogénéisations par la lessive de soude).

2° On divise ce liquide en 6 parties.

3° En ajoutant aux divers échantillons tantôt de l'alcool à 50°, tantôt une solution saturée de NaCl, on obtient finalement 6 homogénéisations de densités très différentes :

Hom. 1. — Hom. initiale + alcool D = 960
— 2. — — D = 980
— 3. — Hom. initiale D = 1000 à 1006
— 4. — Hom. initiale + NaCl D = 1030
— 5. — — D = 1050

4° Ces 6 homogénéisations sont centrifugées un temps égal. Les culots sont étalés et colorés.

5° On examine.

Cette expérience, répétée cinq fois dans des conditions à peu près identiques, a donné toutes les fois les mêmes résultats.

Conclusion. — 1° L'influence de la densité se manifeste : les homogénéisations très denses donnnent de très mauvais résultats.

2° Théoriquement, on devrait avoir des résultats meilleurs avec les homogénéisations très légères. En

réalité il n'en est rien. C'est que les bons effets de la diminution de densité sont neutralisés par la dilution considérable des homogénéisations. On ne peut donc pas songer à ramener à 1000 par l'alcool la densité d'homogénéisations très lourdes.

3° Un autre inconvénient de cette addition d'alcool consiste dans l'altération des B. qui prennent beaucoup moins bien la couleur.

Expérience V

Application du procédé de Besançon et comparaison des résultats avec ceux de la méthode ordinaire

1° On homogénise un crachat par la méthode ordinaire.

2° On mesure la densité de l'homogénéisation refroidie (1000-1006) et on prélève un échantillon.

3° On ajoute une quantité d'alcool à 50° suffisante pour abaisser la D un peu au-dessous de 1000. On prélève un deuxième échantillon.

4° On centrifuge un temps égal ces deux échantillons.

5° On compare les résultats.

La comparaison n'est pas toujours — tant s'en faut — à l'avantage du second échantillon, celui dont la densité est la plus faible.

Tableau VIII

Observations	Echantillon I Densité	Echantillon I Nombre de B. par champ	Echantillon II Densité	Echantillon II Nombre de B. par champ
1 Laennec 3	1000	0,15	994	0,10
2 — 7	1005	0,33	999	0
3 — 24	1005	0,16	999	0,13
4 — 26	1004	0,33	1000	2
5 — 28	1002	0,1	998	2
6 — 20	?	0,06	? alcool	0
7 — 23	1005	20	1000	30
8 Sanatorium	1005	1,5	1000	2,5
9 —	1002	1	998	0
10 —	1003	0,8	996	0,45
11 —	1001	3	998	6
12 Combal	1005	25	1000	15
13 —	1006	10	1000	15
14 —	1005	50	1000	100
15 Laennec 27	1004	1,5	1000	1,5

Sur 15 observations, une fois le nombre de B. trouvé dans les deux échantillons a été le même ; 7 fois seulement l'échantillon II a donné un nombre de B. supérieur à l'échantillon I ; 7 fois il a été inférieur.

Dans la plupart des cas, les B. étaient moins colorés dans l'échantillon qui contenait de l'alcool.

Conclusion. — L'addition d'alcool aux homogénéisations par la lessive de soude, même en faible proportion, n'est pas avantageuse : la concentration des B. n'est pas toujours facilitée, les B. sont constamment moins visibles.

La conclusion générale qui découle de toutes nos expériences est que : *Nous ne conseillons pas dans la pratique le procédé de Besançon qui nous paraît être, dans la plupart des cas, une complication inutile de la méthode ordinaire.*

Cette conclusion, qui découle de la dernière expérience et de celles qui précèdent, n'est du reste pas la seule qu'on en puisse tirer. Et il nous paraît bon de faire ressortir ici l'influence de la **viscosité des homogénéisations**.

C'est dans cette influence que réside peut-être en partie le secret de ces inégalités très curieuses observées par tous les auteurs dans les résultats obtenus, et que des différences de densité ne nous paraissent pas expliquer suffisamment.

Les homogénéisations sont plus ou moins visqueuses comme elles sont plus ou moins denses ; et ces deux propriétés ne varient pas forcément dans le même sens ; elles sont indépendantes l'une de l'autre. Il y a des homogénéisations de faible densité qui sont très visqueuses ; il y en a de lourdes qui sont très fluides. C'est qu'en effet viscosité et densité ne sont pas sous la dépendance des mêmes facteurs. La densité d'une homogénéisation dépend surtout de la quantité, de la nature du fluidifiant employé ; tandis que la viscosité est en rapport avec la structure même de l'expectoration.

Il nous a paru dans nos expériences sur les crachats que plus une homogénéisation est visqueuse, moins les résultats de la centrifugation sont bons. Cette remarque s'accorde avec les faits expérimentaux d'Ellermann.

En sorte que, le jour où l'on saura d'une part mesurer la viscosité d'une homogénéisation, d'autre part la dimi-

nuer sans trop diluer le liquide à centrifuger, ce jour-là peut-être les résultats seront beaucoup améliorés, et beaucoup plus constants. Les quelques recherches faites par nous dans ce sens sont restées sans résultat. Cette question mériterait d'être approfondie.

Malgré ses imperfections, l'homogénéisation par la lessive de soude suivant la technique habituelle constitue à l'heure actuelle une ressource dans bien des cas précieuse pour le clinicien.

Telle est la conclusion que nous souhaitons voir se dégager de la lecture de ce travail.

CONCLUSIONS

1° L'homogénéisation est une méthode qui a pour but de concentrer sous un volume très restreint les B. contenus dans une masse déterminée de crachats et par cela même de faciliter leur découverte. Elle fait gagner du temps dans les cas douteux, en remplaçant avantageusement plusieurs examens directs.

2° Son principe est le suivant : On fluidifie d'abord le crachat ; puis on concentre, le plus habituellement par centrifugation, les B. en suspension dans ce liquide.

3° Créée par BIEDERT, cette méthode, après avoir traversé une période de défaveur, semble acquérir depuis trois ou quatre ans un regain d'actualité.

4° Parmi les très nombreux procédés préconisés, trois semblent réunir les suffrages de la plupart des auteurs ; ce sont : la Doppelméthode d'ELLERMANN-ERLANDSEN, la méthode de l'antiformine, et celle de la lessive de soude. Ce sont ces trois procédés que nous avons expérimentés.

5° Cette expérimentation nous a fourni quelques résultats intéressants :

a) Dans 12 cas nous avons pu trouver dans des cra-

chats homogénéisés des B., alors que des examens directs antérieurs étaient restés négatifs ;

b) Il semble résulter de nos expériences que, dans les conditions ordinaires de technique et d'outillage où nous nous étions placé, on peut aisément arriver, grâce à ces méthodes, à quintupler dans une préparation le nombre des B. Dans un tiers des cas la préparation homogénéisée par nous renfermait au moins dix fois plus de B. que le frottis banal.

Des trois méthodes employées, c'est la doppelméthode qui donne le meilleur enrichissement des préparations. Cependant, à cause du temps très long et de l'outillage compliqué que nécessitent ces manipulations, on doit, dans la pratique courante, préférer le procédé de la lessive de soude qui concentre bien les B. et ne les altère pas.

7° Le gros inconvénient de ces méthodes en général et de la méthode de la soude en particulier, c'est l'inégalité des résultats qu'elles fournissent. Cette inégalité n'est pas fonction des densités différentes des homogénéisat.

8° La densité joue un grand rôle quand il s'agit de collecter les B. dans des homogénéisations très lourdes, comme celles obtenues par le borax, l'eau de Javel, l'antiformine pure. Pour les homogénéisations légères obtenues avec la lessive de soude, son influence est insignifiante. La technique de Besançon, qui ajoute de l'alcool aux liquides d'homogénéisation, n'augmente pas l'enrichissement en bacilles et nuit à la coloration des B. Le procédé de Besançon ne nous paraît donc pas à recommander.

9° Pour expliquer les inégalités dans les résultats obtenus en homogénéisant les crachats, on pourrait peut-être faire intervenir — la densité étant mise hors

de cause — la viscosité ; c'est là un élément malheureusement mal connu, et qu'il serait très intéressant sans doute de pouvoir mesurer et modifier.

10° Telle qu'elle est appliquée actuellement, l'homogénéisation des crachats par la méthode ordinaire de la lessive de soude constitue en bien des circonstances une ressource précieuse pour le clinicien.

BIBLIOGRAPHIE

Aman. — Centralblatt f. Bact., section I, t. XVIII, p. 513.

Anglada. — Recherches sur l'homogénéisation des crachats (Com. à la Soc. sc. méd. de Montpellier, mars 1912).

— Nouveaux procédés de recherches du bacille tuberculeux (Arch. de méd. expérimentale, juin 1912).

Auclair et Paris. — Arch. de méd. expérimentale et d'anat. path., 1907, n° 19.

Beitske. — Die Anreicherungsverfarhen zum Nachweis der Tuberkelbazillen im Sputum (Hygienische Rundschau, 1902, t. XII).

— Eine Fehlerquelle bei der Antiforminmethode (Berliner klin. Wochens., 1910, n° 31).

Bernhardt. — Deutsche med. Wochens., 1909, n° 33.

Besançon. — La notion de densité dans l'homogénéisation des crachats tuberculeux (La Tuberculose, mars 1911).

Besançon, Griffon et Philibert. — Recherche du B. tuberculeux dans le sang par homogénéisation du caillot (C. R. Soc Biologie, 10 janv. 1903, t. LV).

— Causes d'erreur dans le diagnostic du B. tuberculeux recherché dans le caillot par examen microscopique.

Biedert. — Ein veifahren, den Nachweis vereinzelter Tuberkelbazillen zu Sichern (Berliner klin. Wochens., 1896, n^{os} 42-43).

Bierotte. — Berliner klin. Wochens., 1910, n° 19.

Boardmann. — L'emploi de l'antiformine dans l'examen des crachats pour la recherche du B. tuberculeux (Bulletin of the Johns Hopkins Hospital, juillet 1911, t. XXII).

Bogason. — Hospital Tidende, 1909, n° 47.

Catti. — L'antiformine dans la recherche des B. T. (Annali del Instit. Maragliano, 1910, t. IV).

Courtade-Arnaude. — Gazette hebd. Sc. méd. Bordeaux, 1902, n° 49. — Gazette des Hôpitaux, 11 décembre 1902, p. 1381.

Czaplewski. — Zum Nachweis des Tuberkelbazillus im Sputum (Zeitsch. f. Tuberkulose, 1901, t. II, fasc. 2, p. 203).

Dahmen. — Münchener med. Wochens., 1891, p. 667.

Dilg. — Centralblatt f. Bact. (travaux originaux, 1903, t. XXXI).

Ellermann-Erlandsen. — Nachweis der B. in Sputum (Zeitsch. f. Hygiene, 1908, t. LXIX).

Enrich. — Recherche des B. T. dans l'expectoration (The British medical Journal, 16 sept. 1911, p. 596).

Farland. — Hygienische Rundschau, 1908, n° 1.

Finkelstein. — Die neuesten Methoden des bacteriologischen Tuberkelbazillen Nachweis in verschiedene pathologischen Excreten (Berliner klin. Wochens., 6 juin 1910, n° 23).

Frei (Wilhelm). — Ueber einige Anreicherungs und Farbenmethoden der T. B. im Sputum (Centralbl. f. Bact. (trav. origin.), 16 déc. 1911, t. LXI).

Gaussel et Corone. — L'homogénéisation des crachats pour la recherche des B. T. (Bulletin de la Soc. Sc. méd. de Montpellier, 1911, p. 203).

Goerres. — Ueber den Nachweis der T. B. im Sputum mittels der Antiformin und Antiformin-Ligroïnmethode (Zeitsch. f. klinische Medizin, 1910, t. LXX, p. 86).

Goodmann. — A method of examining sputa for tubercle bacilli (New-York medical Journal, 2 juill. 1910, t. XCII, n° 1).

Hammerl. — Contribution à l'étude de l'homogénéisation des crachats (München. med. Woch., 1909).

Hammond. — Cité par Pertig.

Hart et Lessing. — Untersuchungen über den Wert der Antiforminmethode für den T. B. Nachweis im Gewebe (Wiener med. Wochensch., 2 mars 1911).

Haserodt. — Hygienische Rundschau, 1909, n° 12.

Hempel. — Untersuchung über den Nachweis von T. B. und ihre Zählung im Sputum (Inaugural Dissertation. Leipzig, 1902).

Herzfeld. — Vergleichende Untersuchungen mit der Antiformin-Ligroïn und der Ellermann-Erlandsen-methode zum Nachweis von T. B. im Sputum (Zeitsch. f. Hygiene, 1910, t. LXVI, p. 336).

Hobbel. — Recherche des T. B. dans les crachats (Nederlandich Tidjschrift voor Geneeskunde, 12 nov. 1910, n° 20).

Hune. — Hygienische Rundschau, 1908, p. 1090.

Huzella. — Der Nachweis sehr spärlicher Mengen von T. B. (Deutsche med. Wochens., 1910, t. XXXVI, p. 932).

Ides et Smithies. — Les méthodes récentes pour la recherche du B. T. et en particulier le procédé à l'antiformine (Journal of Michigan Stat Medical Society, mai 1911).

Jacobson. — La recherche du B. T. par la méthode à l'antiformine-ligroïne (C. R. de la Soc. Biol., 13 nov. 1909).

Jochmann. — Hygienische Rundschau, 1902, n° XII.

Joergensen. — Ueber den Wert verschiedener Homogenesierungs- und Sedimentierungsmethoden, behufs des Nachweises der T. B. im Sputum (Zeitsch. f. Hygiene, 1910, t. LXVI, p. 315).

Jousset. — Semaine médicale, 21 janv. 1903.

Kayser. — Vergleichende Untersuchungen mit neueren Methoden des T. B. Nachweises (Centralbl. f. Bact. (trav. origin.); t. LV).

Kaway. — Les nouvelles méthodes pour déceler les B. T. dans les crachats, les sécrétions pathol. et les tissus (Medicinische Klinik (Berne), janv. 1911, nos 4, 5).

Ketel (Van). — Arch. f. Hygiene, 1892, t. XV, p. 109.

Klein. — Centralbl. f. Bact., 1900, Abt. I, p. 834.

Kögel. — Deutsche med. Wochens., 1909, n° 48.

Koslow. — Aether-acetonischekombination der Antiformins Methode (Berliner klin. Wochens., 20 juin 1910).

Krüger. — München. med. Wochens., 1910, p. 270.

Kuhne. — Die untersuchung von Sputum auf T. B. (Centralbl. f. Bact., 1890, t. VIII, p. 239).

Lagrèse. — Deutsche med. Wochens., 1910, n° 2.

Lange et Nitsche. — Die Ligroïnauschuttelung der T. B. (Zeitsch. f. Hygiene, 1910, t. LXVII).

Lannoïse (de) et Girard. — Nouvelle méthode pour la recherche du B. de Koch dans les crachats et le pus des tuberculeux (Presse médicale, 1900, p. 167).

Löffler. — Ein neues Ameicherungsverfahren zum färberischen Nachweise spärlicher Tuberkelbazillen (Deutsche med. Wochens., 27 octobre 1910, n° 43).

Lorenz. — Berliner klin. Wochens., 16 janvier 1911.

Mieszner et Kuhne. — L'emploi de l'antiformine pour la mise en évidence du B. T. dans le lait et le mucus du vagin (Mitt. des K. W. Inst. f. Landw. Bromberg, 1910, t. II).

Merkel. — Der Tuberkelbazillennachweis mittels Antiformine und seine Verwendung für die histologische Diagnose der Tuberkulose (München. med. Wochens., 1910, n° 13).

Mulhauser. — Deutsche med. Woch., 1891, p. 282.

Nemmser et Martos-Lissowska. — A propos de l'examen des crachats suspects de tuberculose (Deutsche med. Wochens., 14 sept. 1911).

Petersen. — Jahresbericht des Nationalvereins in Dänemark zür Bekämpfung der Tuberkulose, 1906.

Philipp. — Edinburgh med. Journal, 1886, p. 409.

Pinkus. — St-Petersburger med. Wochens., 1904, n° 33.

Polugorodgnik (Davos). — Les avantages de la méthode à l'ac. picrique et à l'antiformine pour l'examen microscop. des crachats (Beitrage zür Klinik der Tuberkulose und spezifiche Tuberkulose-Forschung, 1910, t. XVIII).

Quensel. — Ein neues sediementierungsverfahren zur Untersuchung von T. B. im Sputum (Nordisk med. Archiv. Afd. II).

Rosenblatt. — Hygienische Rundschau, 1904, p. 670.

Sachs-Muke. — München. med. Wochens., 1906, n° 34.

Scheven (Von). — Deutsche med. Wochens, 1909, n° 37.

Schulte. — Med. Klinik, 1910, n° 5.

Seemann. — Berliner klin. Wochens., 1909, n° 14.

Schennan. — Improveds methods of demonstrating the tubercle bacillen in Sputum and in tissues (Edinburgh medical Journal, sept. 1910, t. V, n° 3).

Skutchzky. — Der frühzeitige Nachweis der T. B. im Sputum mittels der Antiformin und Antiformin-Ligroïnmethode und deren Bedeutung für den Militärartzt (Wiener medizinische Wochens., 27 août 1910, n° 35).

Sorgo. — Wiener klin. Wochens., 1903.

Spengler. — Deutsche med. Wochens., 1900, n° 16.

Strasburger. — Ein verändertes Sedimentierungs-verfahren zum mikroskop. Nachweis von Bacterien (München. med. Wochens., 1900, n° 10).

Strauss. — La tuberculose et son bacille (Paris, 1895).

Stroshein. — Mitteil. von Brehmers Heilanstalten, 1889.

Telemann. — T. B. Nachweis (Deutsch. med. Wochens., 1910, n° 19).

Thilenius. — Berliner klin. Wochens., 1909, n° 25.

Ulhenhut et Xylander. — Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheilsamte, 1909, t. XXXII.

Wendrimer. — Cité par Strauss.

Zahn. — Ein neues einfache Aureicherungsverfahren für Tuberkelbazillen (München. med. Wochens., 1910, n° 16).

Vu et permis d'imprimer :
Montpellier, le 8 mai 1912.
Le Recteur,
Ant. BENOIST.

Vu et approuvé :
Montpellier, le 8 mai 1912.
Le Doyen,
MAIRET.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

AVANT-PROPOS. — DIVISION DU SUJET 7

PREMIÈRE PARTIE

Revue des travaux antérieurs

CHAPITRE I. — Définition. But. Avantages et Principe de la méthode 11

CHAPITRE II. — Historique 16

CHAPITRE III. — Technique des principales méthodes d'homogénéisation 21

CHAPITRE IV. — Appréciations portées par divers auteurs sur les principales méthodes 33

DEUXIÈME PARTIE

Recherches personnelles

CHAPITRE I. — Conditions générales d'expérimentation et plan des recherches 37

Pages

CHAPITRE II. — Méthode de la lessive de soude 39

I. — Technique 39

II. — Résultats 40

CHAPITRE III. — Méthode d'Ellermann-Erlandsen 43

I. — Technique 43

II. — Résultats 44

CHAPITRE IV. — Méthode de l'antiformine (procédé de Lorenz, 1911) 46

I. — Technique 46

II. — Résultats 47

CHAPITRE V. — Résultats généraux 49

CHAPITRE VI. — Essai de comparaison des méthodes employées. Avantages de la méthode par la lessive de soude 52

CHAPITRE VII. — Densité des liquides d'homogénéisation .. 57

Procédé de Besançon 58

Critique 58

Recherches expérimentales 60

CONCLUSIONS 68

BIBLIOGRAPHIE 71

TABLE DES MATIÈRES 77

SERMENT

En présence des Maîtres de cette École, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent, et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses! Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque!